新規ニューロペプチド Y Y5 受容体 アンタゴニスト S-2367 の抗肥満作用

雪岡 日出男

要約：ニューロペプチド Y (NPY) は摂食を亢進し、エネルギー消費を抑制する神経ペプチドである。NPY には少なくとも 4 つの受容体の存在が確認されており、このうち Y5 受容体がエネルギー代謝に重要な役割を果たすことが知られている。したがって、この受容体を介した NPY のシグナルを遮断することによって体重の減少、すなわち抗肥満作用が期待できる。我々はこの仮説を検証すべく、Y5 受容体アンタゴニスト S-2367 を創製し、抗肥満作用を検討してきた。Y5 受容体過剰発現細胞を用いた検討で、S-2367 はヒト Y5 受容体に対して高い結合親和性を示し、フォルスコリンが誘導するサイクリック AMP 産生に対する NPY の抑制効果に対し、拮抗作用を示した。また、ラットの脳室内に Y5 受容体に特異的なペプチドアゴニストを注入した際に誘導される摂食行動は、S-2367 の事前投与により顕著に阻害された。以上の結果から、S-2367 は経口投与可能な Y5 受容体アンタゴニストであることが確認された。また、あらかじめ高脂肪食を負荷して肥満を誘導したマウスに S-2367 を反復経口投与したところ、体重、腹腔内脂肪量、肝臓の中性脂肪含量が有意に抑制された。さらに、米国で実施された 1 年間の臨床試験で S-2367 投与群では偽薬群と比較して有意な体重減少が観察され、肥満治療における Y5 受容体アンタゴニストの有用性が確認された。

はじめに

高血圧症、糖尿病、脂質代謝異常症といった代謝性疾患の治療は食事療法、運動療法、薬物療法によって行われる。ある調査によると、糖尿病治療の薬物療法に対するもっとも不満な点は「糖尿病が治らない」ことだそうである。現在の抗糖尿病薬の多くはインスリン分泌の亢進やインスリンの作用性を増強して血中の糖を骨格筋や脂肪組織などに移動させ、血管に対する糖毒性を回避して合併症の発症を遅延させているが、

このような薬物は患者の要求を必ずしも満たしていないことを、この調査は示している。代謝性疾患は遺伝素因に加えて、過食、運動不足などにより長期にわたって生体のエネルギーが過剰になることが原因で起こるため、このようなエネルギーバランスを是正しない限り、根本的な治療につながらない可能性が高い。実際、インスリンの作用低下によって引き起こされる 2 型糖尿病の場合、7 割以上の方が食事療法だけで病状を十分に解決でき、また、薬物療法が必要な場合も、食事療法がしっかりできていないと、その治療効果は上がりにくいといわれている。したがって、今後は食事療法を成功に導き、糖尿病を始めとする代謝性疾患の根本的な治療を可能とする薬が求められると思われる。我々はこのようなニーズを満たす薬物の創製を目指しており、その一環として、Y5 受容体アンタゴニストの研究開発を行っている。本稿では現在、臨床第 II 相の段階にある S-2367 について紹介する。

1. 創薬ターゲットとしての Y5 受容体

1994 年、脳の視床下部に働いて食欲を抑制するホルモン、レプチンが同定された(1)。この発見は世界に大きなインパクトを与え、その後の食欲制御機構の解明に大きな役割を果たす事となった。我々はこの報告以降明らかにされた食欲制御機構から、レプチン受容体 (ObR)、メラノコルチン受容体 (MCRs)、アグーチ関連ペプチド (AgRP) 等について創薬ターゲットとしての可能性を検討した。その結果、すでに 1982 年に同定され、食欲亢進ペプチドとして知られていたニューロペプチド Y (NPY) 周辺にもっとも創薬の可能性を感じた(図 1)。その理由は、レプチン受容体やメラノコルチン受容体を介した食欲抑制を誘導するためには、低分子ながら機能的な受容体アゴニストが必要であること、AgRP は MCR のアンタゴニストとして知られているが、インバースアゴニストとして機能する

キーワード：ニューロペプチド Y Y5 受容体, DWR, IWR, RCD, LCD

塩野義製薬株式会社 医薬研究本部 創薬・疾患研究所 (〒561-0825 豊中市二葉町 3 丁目 1 番 1 号)

E-mail: hideo.yukioka@shionogi.co.jp 原稿受領日：2010 年 8 月 10 日、依頼原稿

Title: A potent and selective neuropeptide Y Y5-receptor antagonist, S-2367, as an anti-obesity agent. Author: Hideo Yukioka

とも言われるなど、作用において共通見解が得られていなかったからである。

NPYは36アミノ酸からなる神経ペプチドで、中枢神経系はもちろん、末梢神経系および血中でも存在が確認されている。ラットあるいはマウスの脳内にNPYを注入すると、摂食行動が誘導され、絶食や長期の食事制限で脳内のNPY遺伝子の発現は亢進し、再度、食餌させることで通常の発現レベルに戻ることが知られている。すなわち、NPYはエネルギー恒常性の維持に重要な役割を果たしている。表1に示すように、NPYは、このほかにも不安や鬱といった精神疾患、消化管運動制御、血管収縮作用など多彩な生理現象に関与するとされている。ヒトにおいてNPYの受容体はこれまでにY1、Y2、Y4、Y5の4種類が同定されており、いずれもG_iタンパク質と共役する7回膜貫通型受容体である。エネルギー恒常性に深く関与するこれらNPY受容体を介したシグナルを制御して、エネルギーバランスを正常化することができれば、体重の減少を誘導する薬物、すなわち抗肥満薬の創製につながると期待される。これらのうちY2、Y4受容体の場合、抗肥満作用を誘導するためには受容体の活性化が必要と考えられた。一方、Y1受容体はエネルギーバランスを正の方向に制御する役割をはたすものの、血圧の制御や痛覚経路への関与も報告されており、化合物によってシグナルが遮断された場合、副作用を誘導するリスクが高い。これに対し、1996年にクローニングされたY5受容体(2)の機能は、他の受容体に比べて相対的にNPYによるエネルギー恒常性の制御に絞られており、副作用リスクの少ない優れた創薬ターゲットであると考えられた。

図1 レプチンによる食欲調節機構

NPY：ニューロペプチドY、Y5：ニューロペプチドY Y5受容体、AgRP：アグーチ関連ペプチド、α-MSH：メラニン細胞刺激ホルモン、ObR：レプチン受容体、MCRs：メラノコルチン受容体

2. S-2367の選抜

1997年、弊社研究所において、Y5受容体アンタゴニストのスクリーニングが出来上がって間もないハイスループットスクリーニングシステムを用いて行われた。選抜基準をクリアした化合物から、化学系担当者 と生物系担当者の綿密な情報交換によって、ヒトY5受容体に高い親和性と選択性を示す化合物が複数見いだされた。数々の非臨床試験の結果から、最終的に開発候補化合物として、薬効モデル動物におけるY5アンタゴニスト活性が非常に強いが、安全性に多少懸念があるものと、高い安全性を示すものの、Y5アンタゴニスト活性が明らかに前者に劣るものとの2化合物に絞られた。激しい議論の末、ヒトへの安全性リスクの低い、後者が選抜された。これが後のS-2367である(3)。社内でこのような活動が行われている間、世間では重要な論文がいくつか報告され、その影響によりS-2367の研究開発も少なからず影響を受ける事になった。このうちY5受容体欠損マウスに関する報告は、生育初期の摂食や体重は対照マウスと差がなく、生育期間を経るにつれて体重、摂餌量、肥満度において対照マウスを上回るという内容で、抗肥満薬としてのY5受容体アンタゴニストの可能性に疑問を投げかけるものであった。しかし、別の報告では、Y5受容体のアンチセンスオリゴヌクレオチドをラット脳内に注入すると、食欲が低下し、体重が減少することが示された。つまり、ロックアウトマウスの表現型は、必ずしも後天的な機能阻害を反映しない可能性が考えられた。これをうけて、欠損マウスの表現型は創薬ターゲット選定や薬物の開発において、ある程度の参考とはなるものの絶対的な材料を提供するものではないとの判断のもと、S-2367の研究開発は継続された。次項ではこれまでにS-2367で得られた知見について詳細に紹介する。

表1 NPY受容体の機能

主な生理作用	受容体			
食欲	Y1(+)	Y2(-)	Y4(-)	Y5(+)
エネルギー消費	Y1(-)			Y5(-)
てんかん（痙攣）	Y1(+)	Y2(-)		Y5(-)
不安	Y1(-)	Y2(+)		Y5(-)
疼痛感受性	Y1(-)	Y2(-)		
うつ	Y1(-)	Y2(-)		
消化管活動		Y2(-)	Y4(-)	
血圧	Y1(+)	Y2(+)		
アルコール依存	Y1(-)			

+：増強，-：抑制

Neuropeptides. 2004;38:135-140. (modified)
Endocrinology. 2003;144:1793.

3. S-2367 の薬理学的特徴(4)

1) Y5 受容体アンタゴニスト作用

S-2367 はヒト Y5 受容体に対して高い結合親和性 (K_i : 4.84 nM) を示し、ヒト Y5 受容体発現細胞において、フォルスコリンが誘導するサイクリック AMP 産生に対する NPY の抑制効果に対し、拮抗作用を示した (EC_{50} : 10.6 nM)。一方で、他の NPY 受容体サブタイプ (Y1, Y2 および Y4) に対しては低い親和性 (K_i : 10700 nM 以上) しか示さなかった。さらに、S-2367 はカンナビノイド、ドパミン、セロトニンおよびアドレナリン受容体を含む 79 種の NPY 以外の受容体ならびに 28 種の酵素に対して、10 μ M で有意な親和性や阻害を示さなかった。

ラットにおいて NPY を脳室内に注入することにより誘導される摂食は、S-2367 を事前に経口投与することにより、有意に抑制されたが、その抑制率は約 40%にとどまった。一方、ラットおよびマウスにおいて Y5 受容体選択的アゴニストである [cPP¹⁻⁷, NPY¹⁹⁻²³, Ala³¹, Aib³², Gln³⁴]-human Pancreatic Polypeptide を脳室内に注入することにより誘導される摂食は、S-2367 を事前に経口投与することにより、最高で約 80%抑制された。以上、S-2367 はラットおよびマウスにおいて Y5 受容体拮抗作用を示すことが確認された。

2) 抗肥満作用

C57BL/6J マウスに高脂肪食（総カロリーの 60%が脂肪由来）を 6 週間与え、その後、高脂肪食負荷を継続しながら、経口投与馴化を 4 週間、さらに S-2367 (50 mg/kg, 1 日 2 回) を 4 週間反復経口投与した。その結果、マウスの体重増加量は媒体投与を継続した群に比較して、約 47%抑制された。このとき S-2367 投与群では、4 週間の累積摂食量が約 12%抑制された。次に、レプチンを欠損するために肥満を呈する C57BL/6J-ob/ob マウスに 6 日間高脂肪食を与え、その後、高脂肪食負荷を継続しながら、S-2367 を 4 週間反復経口投与したところ、体重増加が有意に抑制された。さらに、最終投与の翌日に経口グルコース負荷試験を実施して、糖代謝への影響を検討したところ、S-2367 を投与した高脂肪食負荷 C57BL/6J-ob/ob マウスは、高脂肪食負荷媒体投与マウスに比べ、優れた耐糖能を示した。これらの結果は、S-2367 は体重抑制作用のみならず、C57BL/6J-ob/ob マウスにおける糖代謝障害を改善する作用を有することを示している。

3) S-2367 の抗肥満作用機序(5)

S-2367 は有意な摂食抑制作用を示すが、その作用は軽微であったことから、高脂肪食負荷 C57BL/6J マウスに S-2367 を反復経口投与した際に認められる持続的な抗肥満作用には、エネルギー消費の亢進が関与

している可能性が考えられた。そこで、反復投与終了の翌日に酸素消費量を測定したところ、S-2367 投与群で媒体投与対照群と比較して、有意な酸素消費の上昇が認められた。次に、Y5 受容体選択的アゴニストを脳室内投与した際の酸素消費変化を測定した。Y5 受容体選択的アゴニストを脳室内に注入されたマウスは、有意に低い酸素消費量を示し、この Y5 受容体選択的アゴニストによる酸素消費量の減少作用は、S-2367 の前処理により拮抗された。これらの結果は、マウスにおいて Y5 受容体の活性化がエネルギー消費の減少を引き起こし、S-2367 がその作用に対して拮抗すること、S-2367 による体重減少作用にエネルギー消費の亢進が関与することを示唆している。以上の結果から想定される S-2367 の抗肥満作用機序を図 2 に示した。すなわち、Y5 受容体の活性化が摂食量の増加と酸素消費の抑制を招き、エネルギー過剰の状態から、結果として肥満が形成される S-2367 はこのように乱れた食欲とエネルギー消費のバランスを正常化し、体重の減少をもたらすと考えられる。

4) 臨床試験成績(6-8)

S-2367 は第 I 相試験 7 試験、第 II 相試験 3 試験が完了しており、これまでに 1700 例以上に 1 日最大量 9600 mg、最長 21 ヶ月まで投薬されている。いずれの試験においても、S-2367 の忍容性は良好であった。

①前期第 II 相 Proof of Concept (POC) 試験：

肥満被検者 342 例において S-2367 の 400 および 1600 mg/日を 12 週間投与したところ、プラセボ群と比較し統計的に有意な体重減少が認められた。本試験では、肥満度の指標である Body Mass Index (BMI) 30.0~40.0 の健康上問題のない肥満被検者を 2 種類の試験群「事前の低カロリー食の食事療法を実施する群 (Delayed Weight Reduction: DWR)」および「事前の低カロリー食の食事療法を実施しない群 (Immediate Weight Reduction: IWR)」のいずれかに割り付けた

図2 S-2367による抗肥満作用機序

NPY: ニューロペプチドY, Y5: ニューロペプチドY Y5受容体

(図3). DWR 群については、1 日カロリー摂取量を 900 kcal に制限した低カロリー食 (LCD) 下に、プラセボを単盲検下で 4 週間投与した。その後、S-2367 400 mg/日群、1600 mg/日群、またはプラセボ群に被検者を割付け、体重維持に必要な 1 日摂取推奨カロリーから 500 kcal/日を減じた減カロリー食 (RCD) 下に、治験薬を二重盲検下で 12 週間投与した。一方、IWR 群については、S-2367 400 mg/日群、1600 mg/日群、プラセボ群のいずれかに割付け、二重盲検下で治験薬を 12 週間投与した。DWR 群では 4 週間の導入 LCD 期に、約 3 kg の体重減少が認められ、その後の 12 週間の投与期間中にプラセボ群では、ほぼ体重が維持されたが、S-2367 投与群ではさらに体重減少が認められ、12 週間後の体重減少量はベースライン (治験薬投与開始時) と比較し、400 mg 群で 1.44 kg、1600 mg 群で 2.17 kg でいずれもプラセボ群と比較して統計的に有意差が認められた。一方、IWR 群では、プラセボ、実薬群ともに体重減少が認められ、12 週間での体重減少はプラセボ群で 2.25 kg、400 mg 群で 3.00 kg、1600 mg 群で 3.15 kg であった。S-2367 群での体重減少量はプラセボ群よりも大きかったが、いずれも統計学的有意差は認められなかった。

この試験の結果から S-2367 は肥満者の低カロリー食で達成した体重減少を維持し、さらに体重を減少させることが明らかとなった。現在の肥満治療においては体重減少を維持できず、再び体重が増加してしまうことが大きな問題点の 1 つであるため、この成果は肥満治療領域において非常に意義深いと考えられる。また、この結果を発表した 2006 年 7 月時点で Y5 受容体アンタゴニストがヒトにおいて有効性を示すことを証

明したのは本件がはじめてであり、弊社の創業研究の歴史においても非常にインパクトのある出来事であった。

2006 年 10 月、S-2367 の POC 試験結果を海外の学会で発表すべく準備を進めていたところ、他社が我々に先駆けて Y5 受容体アンタゴニストの臨床試験を実施し、抗肥満作用を認めたものの、臨床上的意味のある作用ではなかったという内容の報告がなされた(9)。社内では大きな話題となり、S-2367 の後期第 II 相臨床試験の実施を危ぶむ声も少なくなかった。しかしながら、このとき POC での DWR、IWR 試験の貴重なデータが次の試験の推進に重要な役割を果たした。すなわち、LCD 期に体重を 2~3 kg 程度落とすと S-2367 の体重維持・抑制効果が強く発現するが、IWR のように体重を落とさずに S-2367 を投与すると、効果が見えにくいという事実を我々はつかんでいた。このとき他社から発表された結果でも、前期第 II 相 POC 試験では 6 週間の lead-in 期に 2 kg 程度の体重減少の後、実薬を投与することで Y5 受容体アンタゴニストの抗肥満効果が見えていたが、その後の後期第 II 相試験では、なぜか lead-in を 2 週間に短縮し、1 kg 弱の体重減少の後に実薬投与に入ったところ、POC 試験結果から期待されたような抗肥満作用が得られなかった。つまり、この試験でも我々の POC 試験でみられた「あらかじめ一定以上の体重減少を誘導した後に Y5 アンタゴニストを投与することにより、抗肥満作用が強くあらわれる」という結果と同様の現象が観察されていたのである。この出来事は臨床試験デザインの重要性と表面的な結果から安易に結論を導くのではなく、あらゆる面から深く考察することの大切さを我々に改めて教えてくれた。この発表は、結果として我々の後期第 II 相試験のデザインにも少なからず影響を与えるとともに、後期第 II 相試験の実施に向けて勇気を与えてくれた。

②後期第 II 相 (RCD, LCD) 試験成績：

後期第 II 相試験では Reduced Calorie Diet (RCD) 試験と Low Calorie Diet (LCD) の 2 試験を実施した (図 4)。RCD 試験では BMI30.0~45.0 の男女肥満被検者 900 例を 6 週間の単盲検のプラセボ導入期に登録し、その後、724 例を S-2367 800 mg/日群、1600 mg/日群またはプラセボ群のいずれかに割付け、54 週間の投与を行った。プラセボ導入期間および S-2367 投与期間を通じて、被検者は体重維持に必要な摂取推奨カロリーから 800 kcal を減じた減カロリー食 (RCD) を継続した。一方、LCD 試験では、BMI30.0~45.0 の男女肥満被検者 842 例を 3 投与群 A、B、C 群のいずれかに割付けた。A 群に対してはプラセボを 60 週間、B 群に対してはプラセボを 6 週間投与後 S-2367 1600 mg/日を 54 週間投与した。C 群に対しては S-2367 1600 mg/日を 60 週間投与した。全ての被検者に対して、最初の 6

図3 POC 試験デザイン

RCD: Reduced Calorie Diet (500 kcal/day 減量食), LCD: Low Calorie Diet (900 kcal/day), IWR: Immediate weight reduction, DWR: Delayed weight reduction

図4 後期第II相臨床試験デザイン

LCD: Low Calorie Diet (950 kcal/day), RCD: Reduced Calorie Diet (800 kcal/day 減量食)

週間は低カロリー食（950 kcal/日）を摂取するように指示した。その後の54週間はRCD試験と同様、体重維持に必要な摂取推奨カロリーから800 kcalを減じた減カロリー食（RCD）を実施した。RCD試験において、治験薬割付け後（ベースライン）から1年目までの体重減少をLast Observation Carried Forward（LOCF）法で解析したところ、プラセボ群が0.63 kgであったのに対し、800 mg群および1600 mg群の体重はそれぞれ3.49 kgおよび2.97 kgであり、いずれもプラセボ群の体重減少を有意に上回った（ $P<0.0001$ ）。また、5%以上の体重減少が認められた被検者の割合は、800 mg群で35.02%、1600 mg群で28.11%であった。いずれもプラセボ群の12.01%と比較して統計学的に有意に高かった（ $P<0.0001$ ）。一方、LCD試験では、投与開始後6週間は3群ともに体重減少が見られたが、3群間に差は認められなかった。その後、プラセボ/プラセボ群（A群）に比べて実薬投与群ではより大きな体重減少が認められた。特にプラセボ/S-2367群（B群）では最終の体重減少量が7.07 kgとなり、A群の4.28 kg、S-2367/S-2367群（C群）の5.76 kgをも上回った（LOCF法による解析）。また、以上の結果から、いったん体重を落としてからS-2367を投与した場合に、体重抑制効果が強く現れるということを再度確認できた。今回の治験は被検者が計画書に規定された日付に従って病院を訪れ、体重測定を行うことで我々はデータを得る事ができるが、逆に被検者が病院を訪れなければ、全くデータが得られない。LOCF法は途中で病院に来なくなった被検者の最後の訪問時のデータをそのまま試験終了時まで採用することになる

ため、薬の効果としては弱めに出る傾向にあるが、この解析法を用いてもS-2367はプラセボ群に比較して統計的に有意な体重減少をもたらした。さらに、FDAのドラフトガイダンスに述べられている「5%以上の体重減少が認められた被検者の割合が、全体の35%以上でかつプラセボ群の2倍以上」という基準をRCD試験の800 mg群で見事クリアすることができた。すなわち、臨床上有意味のある体重減少作用がY5受容体アンタゴニストであるS-2367の投与によりもたらされることを証明できたのである。

現在、S-2367は米国では抗肥満薬として、日本国内では肥満症治療薬として、いずれも臨床第II相試験の段階にあり、今後、臨床試験を進めるにあたって、これまでよりも多くの困難に遭遇することになるかもしれない。現代のような情報化社会にあっては、日々更新される外部情報に惑わされることが少なくないが、これまでに学んだ「自分たちが得たデータを信じて研究開発を進めること」を教訓に、今後もS-2367の研究開発に取り組んでいこうと考えている。

文 献

- 1) Zhang Y, et al. Nature. 1994;372(6505):425-432.
- 2) Gerald C, et al. Nature. 1996;382:168-171.
- 3) Okuno T, et al. American Chemical Society 237th National Meeting. MEDI252, March 22-26, 2009.
- 4) Yukioka H, et al. Obesity. 2006;14 Suppl:A235.
- 5) Shimazaki A, et al. Obesity. 2007;15 Suppl:A57.
- 6) Heshka S, et al. NAASO's 2006 Annual Scientific Meeting Late Breaking. Poster Session 858-LP.
- 7) Puopolo A, et al. Obesity. 2009;17 Suppl:S108.
- 8) Smith D, et al. Obesity. 2009;17 Suppl:S110.
- 9) Erondur N, et al. Cell Metab. 2006;4:275-282.